



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان کرمان

دانشکده پزشکی مهندس افضلی پور

پایان نامه

جهت دریافت درجه ی دکترای تخصصی ارتوپدی

عنوان

بررسی روند جوش خوردن شکستگی استخوان فمور در موش صحرایی نر در حیوانات معتاد به قلیان و گروه کنترل

استاد راهنما:

دکتر امیررضا صادقی فر

اساتید مشاور:

دکتر سیاوش جوکار ، دکتر شهریار دبیری ، دکتر امید آذری ، دکتر داریوش وثوق

پژوهش و نگارش:

دکتر محمد شیبانی

زمستان ۹۹



Kerman University of Medical Sciences

And Health Systems

Thesis

To receive a doctorate in orthopedics

Title

**Evaluation of femoral fracture healing process in male rats in hookah
addicted animals and control group**

Supervisor:

Dr. Amirreza Sadeghifar

Advisors:

Dr. Siavash Jokar

Dr. Shahriar Dabiri

Dr. Omid Azari

Dr. Dariush Vosough

Research and writing:

Dr. Mohammad Sheibani

Winter 2020

فهرست مطالب

چکیده فارسی	۶
چکیده انگلیسی	۸
فصل اول:	۱
مقدمه	۱
فصل دوم:	۷
مروری بر مطالعات انجام شده	۷
فصل سوم:	۹
مواد و روشها	۹
فصل چهارم:	۱۵
نتایج	۱۵
فصل پنجم:	۳۵
بحث و نتیجه گیری	۳۵
۱-۵- نتیجه گیری:	۳۹
۲-۵- پیشنهادات :	۳۹
منابع و مأخذ	۴۰

فهرست جداول ، اشکال و نمودارها

تصویر ۲ –تاثیرات VEGF بر روی مسیر های آنژیوژنز و ترمیم استخوان.....	۵
تصویر شماره ۳ – تاثیر سایتوکاين های گوناگون بر برخی مسیر های ترميم استخوان.....	۶
تصویر شماره ۴ – A: داروی بیهوشی تزریق شده.....	۱۱
تصویر شماره ۵ – دستگاه مکش و توزیع دود و محفظه قرار گیری نمونه ها.....	۱۲
جدول شماره ۱ – میانگین سطح سرمی کوتینین در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۶
نمودار شماره ۱ – میانگین سطح سرمی کوتینین در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۶
جدول شماره ۲ – میانگین سطح سرمی VEGF در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۷
تصویر شماره ۲ – میانگین سطح سرمی VEGF در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۷
جدول شماره ۳ – میانگین سطح سرمی IGF-1 در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۸
تصویر شماره ۳ – میانگین سطح سرمی IGF-1 در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۸
جدول شماره ۴ – میانگین سطح سرمی TGF- β در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۹
تصویر شماره ۳ – میانگین سطح سرمی TGF- β در نمونه های مورد مطالعه.....	۱۹
جدول شماره ۵ – میانگین سطح سرمی PTH در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۰
نمودار شماره ۵ – میانگین سطح سرمی PTH در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۰
جدول شماره ۶ – میانگین سطح سرمی کلسیم در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۱
نمودار شماره ۶ – میانگین سطح سرمی Ca در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۱
جدول شماره ۷ – میانگین سطح سرمی Vit.D3 در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۲
تصویر شماره ۷ – میانگین سطح سرمی Vit.D3 در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۲
جدول شماره ۸ – میانگین نمره Radiographic evaluation روز ۱۰ ام در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۳
نمودار شماره ۸ – میانگین نمره Radiographic evaluation روز ۱۰ ام در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۳
جدول شماره ۹ – میانگین نمره Radiographic evaluation روز ۲۸ ام در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۴
نمودار شماره ۹ – میانگین نمره Radiographic evaluation روز ۲۸ ام در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۴
جدول شماره ۱۰ – میانگین نمره Radiographic evaluation روز ۴۲ ام در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۵
نمودار شماره ۱۰ – میانگین نمره Radiographic evaluation روز ۴۲ ام در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۵
تصویر شماره ۶ – نماهای رادیوگرافی نمونه های مورد مطالعه.....	۲۷
جدول شماره ۱۰ – میانگین نمره precallus formation در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۸
نمودار شماره ۱۰ – میانگین نمره precallus formation در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۸
جدول شماره ۱۱ – میانگین نمره callus formation در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۹
نمودار شماره ۱۱ – میانگین نمره callus formation در نمونه های مورد مطالعه.....	۲۹
جدول شماره ۱۲ – میانگین نمره granulation tissue در نمونه های مورد مطالعه.....	۳۰

۳۰.....	نمودار شماره ۱۲ - میانگین نمره granulation tissue در نمونه های مورد مطالعه
۳۱.....	جدول شماره ۱۳ - میانگین نمره soft tissue edema در نمونه های مورد مطالعه
۳۱.....	نمودار شماره ۱۳ - میانگین نمره soft tissu edema در نمونه های مورد مطالعه
۳۳.....	تصویر شماره ۷ - نماهای پاتولوژیک نمونه های مورد مطالعه در رنگ آمیزی H&E
۳۴.....	تصویر شماره ۸ - نماهای پاتولوژیک نمونه های مورد مطالعه در رنگ آمیزی IHC

چکیده فارسی

بررسی روند جوش خوردن شکستگی استخوان فمور در موش صحرایی نر در حیوانات معتاد

به قلیان و گروه

مقدمه: جوش خوردن استخوان فاکتورهای بسیاری دارد. عدم جوش خوردن و دیر جوش خوردن از عوارض شکستگی ها و یکی از چالش های درمانی میباشد. مصرف دود تنباکو یکی از موارد مهمی است که در مطالعات گوناگون به عنوان فاکتور مختل کننده جوش خوردن شناخته میشود. قلیان یکی از شایع ترین اشکال مصرف تنباکو میباشد لذا مطالعه ای تحت عنوان تاثیر دود قلیان بر جوش خوردن استخوان طراحی و اجرا نمودیم.

روش اجرا: در این مطالعه تجربی از موش های صحرایی نر استفاده شد که دو گروه کنترل و مورد شامل گروه دود و غیر دود بودند. در هر دو گروه شکستگی استخوان فمور انجام شد و با پین اینترامدولاری فیکس شد و سپس روند جوش خوردن به وسیله رادیوگرافی، پاتولوژی و بررسی برخی فاکتور های مربوط به ترمیم و آنژیوژنز بررسی شد.

نتایج: سطح سرمی VEGF، TGF- β ، IGF-1 در نمونه هایی که دود قلیان را دریافت کرده بودند کاهش داشت. به طور معناداری میزان جوش خوردن استخوان در رادیوگرافی در گروه های کنترل بیشتر از گروه های مورد بود. در بررسی یافته های پاتولوژیک فاکتورهایی که مربوط به شروع روند جوش خوردن بود یعنی precallus formation، granulation tissu و soft tissu edema در گروه مورد نمره بالاتری دریافت کردند در واقع گروه های دریافت کننده دود قلیان دیر تر روند جوش خوردن را آغاز کرده بودند.

بحث و نتیجه گیری: دود قلیان در شکستگی استخوان فمور در موش صحرایی نر باعث عدم جوش خوردن و دیر جوش خوردن استخوان میشود.

چکیده انگلیسی

Evaluation of union of femur fracture in rats with hoecake addiction and control group

Introduction: Bone union has many factors. Non-union and delay union are complications of fractures and one of the treatment challenges. Tobacco smoke consumption is one of the important cases that is known in various studies as a factor that interferes with healing. hoecake is one of the most common forms of tobacco use, so we designed and conducted a study entitled The effect of hookah smoke on bone fusion.

Methods: In this experimental study, male rats were used, which were two groups: control and case, including smoked and non-smoked groups. In both groups, femoral bone fractures were performed and fixed with intramedullary pins, and then the healing process was evaluated by radiography, pathology, and examination of some factors related to repair and angiogenesis.

Result: Serum levels of VEGF, TGF- β , and IGF-1 decreased in samples receiving hoecake smoke. The rate of bone fusion on radiography was significantly higher in control groups than case groups. In the study of pathological findings, the factors related to the onset of the boiling process, namely precallus formation, granulation tissue and soft tissue edema, received higher scores in the case group. In fact, the groups receiving hookah smoke started the boiling process later.

Discussion: Hoecake smoke in femoral bone fractures in male rats causes the bone to not heal and the bone to heal late.

منابع و مأخذ

- ۱) Miri-Moghaddam E, Mirzaei R, Arab MR, Kaikha S. The effects of water pipe smoking on hematological parameters in rats. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*. 2014;8(3):37-43. Epub 2015/02/03.
- ۲) Danaei M, Jabbarinejad-Kermani A, Mohebbi E, Momeni M. Waterpipe Tobacco Smoking Prevalence and Associated Factors in the Southeast of Iran. *Addiction & health*. 2017;9(2):72-80. Epub 2018/01/05.
- ۳) Jawad M, Charide R, Waziry R, Darzi A, Ballout RA, Akl EA. The prevalence and trends of waterpipe tobacco smoking: A systematic review. *PloS one*. 2018;13(2):e0192191. Epub 2018/02/10.
- ۴) Ghasemian A, Rezaei N, Saeedi Moghaddam S, Mansouri A, Parsaeian M, Delavari A, et al. Tobacco Smoking Status and the Contribution to Burden of Diseases in Iran, 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *Archives of Iranian medicine*. 2015;18(8):493-501. Epub 2015/08/13.
- ۵) Mortaz E, Alipoor SD, Movassaghi M, Varahram M, Ghorbani J, Folkerts G, et al. Water-pipe smoke condensate increases the internalization of Mycobacterium Bovis of type II alveolar epithelial cells (A549). *BMC pulmonary medicine*. 2017;17(1):68. Epub 2017/04/23
- ۶) Mohammad Badran and Ismail Laher, *Redox Biology*, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101455>
- ۷) Rammah M, Dandachi F, Salman R, Shihadeh A, El-Sabban M. In vitro effects of waterpipe smoke condensate on endothelial cell function: a potential risk factor for vascular disease. *Toxicology letters*. 2013;219(2):133-42. Epub 2013/03/05.
- ۸) Castillo RC, Bosse MJ, MacKenzie EJ, Patterson BM. Impact of smoking on fracture healing and risk of complications in limb-threatening open tibia fractures. *J Orthop Trauma* 2005;19:151–7.
- ۹) Aro HT, Chao EY. Bone-healing patterns affected by loading, fracture fragment stability, fracture type, and fracture site compression. *Clin Orthop Relat Res* 1993;8–17.
- ۱۰) Lacroix D, Prendergast PJ. A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing: analysis of gap size and loading. *J Biomech* 2002;35:1163–71.
- ۱۱) Claes LE, Heigele CA, Neidlinger-Wilke C, et al. Effects of mechanical factors on the fracture healing process. *Clin Orthop Relat Res* 1998:S132–147.
- ۱۲) Marsh DR, Shah S, Elliott J, Kurdy N. The Ilizarov method in nonunion, malunion and infection of fractures. *J Bone Joint Surg Br* 1997;79:273–9.
- ۱۳) Bhandari M, Guyatt G, Tornetta 3rd P et al. Randomized trial of reamed and unreamed intramedullary nailing of tibial shaft fractures. *J Bone Joint Surg Am* 2008;90:2567–78

- ۱۴ Audige L, Griffin D, Bhandari M, et al. Path analysis of factors for delayed healing and nonunion in 416 operatively treated tibial shaft fractures. *Clin Orthop Relat Res* 2005;438:221–32.
- ۱۵ Rothman RH, Klemek JS, Toton JJ. The effect of iron deficiency anaemia on fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* 1971;77:276–83.
- ۱۶ Giannoudis PV, MacDonald DA, Matthews SJ, et al. Nonunion of the femoral diaphysis. The influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Bone Joint Surg Br* 2000;82:655–8.
- ۱۷ Harris SE, Bonewald LF, Harris MA, et al. Effects of transforming growth factor beta on bone nodule formation and expression of bone morphogenetic protein 2, osteocalcin, osteopontin, alkaline phosphatase, and type I collagen mRNA in long-term cultures of fetal rat calvarial osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research* 1994;9:855–63.
- ۱۸ T.K. Daftari, T.E. Whitesides Jr., J.G. Heller, A.C. Goodrich, B.E. McCarey, W.C. Hutton, Nicotine on the revascularization of bone graft. An experimental study in rabbits, *Spine (Phila Pa 1976)* 19 (1994) 904–911.
- ۱۹ R. Kallala, J. Barrow, S.M. Graham, N. Kanakaris, P.V. Giannoudis, The in vitro and in vivo effects of nicotine on bone, bone cells and fracture repair, *Expert Opin. Drug Saf.* 12 (2013) 209–233, <https://doi.org/10.1517/1474.۲۳۸.۲۰۱۳.۲۷۰۴۷۱>
- ۲۰ B. Li, H. Wang, G. Qiu, X. Su, Z. Wu, Synergistic effects of vascular endothelial growth factor on bone morphogenetic proteins induced bone formation in vivo: influencing factors and future research directions, *Biomed. Res. Int.* 2869, ۲۰۱۶ (۲۰۱۶) ۵۷۲ <https://doi.org/10.1155/2016/2869572>.
- ۲۱ K. Hu, B.R. Olsen, Vascular endothelial growth factor control mechanisms in skeletal growth and repair, *Dev. Dyn.* 246 (2017) 227–234, <https://doi.org/10.1002/dvdy.24463>.
- ۲۲ T. Wang, X. Zhang, D.D. Bikle, Osteogenic differentiation of periosteal cells during fracture healing, *J. Cell. Physiol.* 232 (2017) 913–921, <https://doi.org/10.1002/jcp.25641>.
- ۲۳ Jorde, R., Saleh, F., Figenschau, Y., Kamycheva, E., Haug, E., Sundsfjord, J., 2005. Serum parathyroid hormone (PTH levels in smokers and non-smokers. The fifth Tromso study. *Eur. J. Endocrinol.* 152, 39–45.
- ۲۴ Rapuri, P.B., Gallagher, J.C., Balhorn, K.E., Ryschon, K.L., 2000. Smoking and bone metabolism in elderly women. *Bone* 27, 429–436.
- ۲۵ Need ,A.G., Kemp, A., Giles, N., Morris, H.A., Horowitz, M., Nordin, B.E., 2002. Relationships between intestinal calcium absorption, serum vitamin D metabolites and smoking in postmenopausal women. *Osteoporos. Int.* 13, 83–88.

- ۲۶ Arash Moghaddam, Gerald Zimmermann b, Kathrin Hammera, Thomas Bruckner c, Paul Alfred Gruetzner a,d, Jan von Recum , Cigarette smoking influences the clinical and occupational outcome of patients with tibial shaft fractures , *Injury, Int. J. Care Injured* 42 (2011) 1435–1442
- ۲۷ Castillo RC, Bosse MJ, MacKenzie EJ, Patterson BM. Impact of smoking on fracture healing and risk of complications in limb threatening open tibia fractures. *J Orthop Trauma* 2005;19:151–7.
- ۲۸ Kyro A, Usenius JP, Aarnio M, et al. Are smokers a risk group for delayed healing of tibial shaft fractures? *Ann Chir Gynaecol* 1993;82:254–62.
- ۲۹ Harvey EJ, Agel J, Selznick HS, et al. Deleterious effect of smoking on healing of open tibia-shaft fractures. *Am J Orthop* 2002;31:518–21.
- ۳۰ Steingrimsdottir, L., Gunnarsson ,O., Indridason, O.S., Franzson, L., Sigurdsson, G., 2005. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *JAMA* 294, 2336–2341.
- ۳۱ Garekani ET MH, Kraemer RR, Fathi R. . Exercise training intensity/volume affects plasma and tissue adiponectin concentrations in the male rat. . *Peptides*. 2011;32(5):1008–12.
- ۳۲ Al-Awaida W, Najjar H, Shraideh Z. Structural characterization of rat ventricular tissue exposed to the smoke of two types of waterpipe. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2015;18(10):942-9.
- ۳۳ Miri-Moghaddam E, Mirzaei R, Arab MR, Kaikha S. The effects of water pipe smoking on hematological parameters in rats. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*. 2014;8(3):3۴۳-۷
- ۳۴ Komatsuzaki N, Shima J. Effects of live *Lactobacillus paracasei* on plasma lipid concentration in rats fed an ethanol-containing diet. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2012;76(2):232-7.
- ۳۵ Mayr-Wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Günther KP, Dehio C, Puhl W and Brenner RE: Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone* 30: 472-477, 2002.
- ۳۶ Keramaris NC, Calori GM, Nikolaou VS, Schemitsch EH and Giannoudis PV: Fracture vascularity and bone healing: A systematic review of the role of VEGF. *Injury* 39 (Suppl 2): S45-S57, 2008.
- ۳۷ Liu Y, Berendsen AD, Jia S, Lotinun S, Baron R, Ferrara N and Olsen BR: Intracellular VEGF regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation. *J Clin Invest* 122: 3101-3113, 2012.
- ۳۸ Geris L, Gerisch A, Sloten JV, Weiner R and Oosterwyck HV: Angiogenesis in bone fracture healing: A bioregulatory model. *J Theor Biol* 251: 137-158, 2008.

- ۳۹ Collin-Osdoby P, Rothe L, Bekker S, Anderson F, Huang Y and Osdoby P: Basic fibroblast growth factor stimulates osteoclast recruitment, development, and bone pit resorption in association with angiogenesis in vivo on the chick chorioallantoic membrane and activates isolated avian osteoclast resorption in vitro. *J Bone Miner Res* 17: 1859-1871, 2002.
- ۴۰ Saijo M, Kitazawa R, Nakajima M, Kurosaka M, Maeda S and Kitazawa S: Heparanase mRNA expression during fracture repair in mice. *Histochem Cell Biol* 120: 493-503, 2003.
- ۴۱ Liu Y, Berendsen AD, Jia S, Lotinun S, Baron R, Ferrara N and Olsen BR: Intracellular VEGF regulates the balance between osteoblast and adipocyte differentiation. *J Clin Invest* 122: 3101-3113, 2012.
- ۴۲ Gensure RC, Gardella TJ and Jüppner H: Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide, and their receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 328: 666-678, 2005
- ۴۳ Barnes GL, Kakar S, Vora S, Morgan EF, Gerstenfeld LC and Einhorn TA: Stimulation of fracture-healing with systemic intermittent parathyroid hormone treatment. *J Bone Joint Surg Am* 90 (Suppl 1): 120-127, 2008.
- ۴۴ Miao D, He B, Karaplis AC and Goltzman D: Parathyroid hormone is essential for normal fetal bone formation. *J Clin Invest* 109: 1173-1182, 2002.
- ۴۵ Xue Y, Karaplis AC, Hendy GN, Goltzman D and Miao D: Genetic models show that parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D3 play distinct and synergistic roles in postnatal mineral ion homeostasis and skeletal Development. *Hum Mol Genet* 14: 1515-1528, 2005.
- ۴۶ Jilka RL, O'Brien CA, Bartell SM, Weinstein RS and Manolagas SC: Continuous elevation of PTH increases the number of osteoblasts via both osteoclast-dependent and -independent mechanisms. *J Bone Miner Res* 25: 2427-2437, 2010
- ۴۷ Rhee Y, Park SY, Kim YM, Lee S and Lim SK: Angiogenesis inhibitor attenuates parathyroid hormone-induced anabolic effect. *Biomed Pharmacother* 63: 63-68, 2009.
- ۴۸ Prisby R, Guignandon A, Vanden-Bossche A, Mac-Way F, Linossier MT, Thomas M, Laroche N, Malaval L, Langer M, Peter ZA, et al: Intermittent PTH(1-84) is osteoanabolic but not osteoangiogenic and relocates bone marrow blood vessels closer to bone-forming sites. *J Bone Miner Res* 26: 2583-2596, 2011.
- ۴۹ Li X, Liu H, Qin L, Tamasi J, Bergenstock M, Shapses S, Feyen JH, Notterman DA and Partridge NC: Determination of dual effects of parathyroid hormone on skeletal gene expression in vivo by microarray and network analysis. *J Biol Chem* 282: 33086-33097, 2007.



وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی کرمان

دانشکده پزشکی - آموزش بالینی

نمره نهایی دفاع از پایان نامه

پایان نامه تحصیلی دکتر محمد شیبانی

تحت عنوان: بررسی روند جوش خوردن شکستگی استخوان فمور در موش صحرایی نر در حیوانات معتاد به قلبان و گروه کنترل

جهت دریافت درجه دکترای تخصصی ارتوپدی

در تاریخ 99/12/18 باحضور اساتید راهنما و اعضای محترم هیئت داوری دفاع و با میانگین نمره 20 مورد تایید قرار گرفت.

سمت

استاد راهنما

استادیار

دکتر امیررضا صادقی فر

سمت

استاد مشاور

استاد

دکتر شهریار دبیری

استاد

دکتر سیاوش جوکار

دانشیار

دکتر داریوش وثوق

دانشیار

دکتر امید آذری

مهر و امضای مسئول شورای پژوهشی بالین



مرکز آموزشی درمانی آملی پور

صور تجلحه دفاع از پایان نامه

جلسه دفاع از پایان نامه خانم/ آقای محمد شایان دانشجوی دوره کارشناسی ارشد تخصصی بازرگانی دانشکده پزشکی

افضلی پور با عنوان

بررسی ریسکهای اقتصادی و اجتماعی در استفاده از خدمات بهداشتی و درمانی

در ساعت ۷ روز ۱۸ تاریخ ۱۳۹۸ با حضور اعضای محترم هیئت داوران و نماینده شورای پژوهشی

بالیستی دانشکده پزشکی برگزار گردید.

سمت	نام و نام خانوادگی	نمره (از بیست)	مهر و امضاء
استاد(ان) راهنما	<u>دکتر علیرضا شاکری</u>	<u>۲۰</u>	
استاد(ان) مشاور	<u>دکتر علی محمدی</u> <u>دکتر سید محمدی</u> <u>دکتر امیر آذین</u> <u>دکتر سید محمدی</u>	<u>۲۰</u>	
عضو هیأت داوران	<u>دکتر علیرضا شاکری</u>	<u>۲۰</u>	
عضو هیأت داوران	<u>دکتر سید محمدی</u>	<u>۲۰</u>	
عضو هیأت داوران	<u>دکتر امیر آذین</u>	<u>۲۰</u>	
(نماینده شورای پژوهشی بالیستی)	<u>دکتر سید محمدی</u>	<u>۲۰</u>	

پس از استماع مراحل اجرا و نتایج حاصله، پایان نامه با درجه ۸۰ و نمره ۲۰ (از بیست) مورد تأیید قرار گرفت.

روال برگزاری جلسه دفاع از پایان نامه و صحت مدارک ارائه شده شامل خلاصه مقالات و مقالات استخراج شده از پایان نامه مورد تأیید

اینجانب محمد شایان نماینده شورای پژوهشی بالیستی می باشد.

